



저작자표시-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

생활과학석사학위논문

품종 별 인삼 씨의 성분분석 및
추출물의 항산화 효과

Antioxidant Activities and Physicochemical
Characteristics of Various Ginseng Seeds

2013 년 2 월

서울대학교 대학원

식품영양학과

김 희 정

품종 별 인삼 씨의 성분분석 및 추출물의 항산화 효과

Antioxidant Activities and Physicochemical
Characteristics of Various Ginseng Seeds

지도 교수 황 인 경

이 논문을 생활과학석사 학위논문으로 제출함

2012년 11월

서울대학교 대학원

식품영양학과

김 희 정

김희정의 생활과학석사 학위논문을 인준함

2012년 12월

위 원 장 _____ (인)

부위원장 _____ (인)

위 원 _____ (인)

국문 초록

본 연구에서는 성장기간과 성장지역이 다른 인삼에서 채취한 고려인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 3년근(KGS3), 4년근(KGS4) 씨와 미국인삼(*Panax quinquefolium* L.)(AGS), 중국인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)(CGS) 4년근 씨의 이화학적 특성을 비교하고 각 인삼 씨의 기능성 성분 분석 및 항산화 활성을 측정하여 인삼 씨의 생리활성을 확인하고 식품 소재로의 활용 가능성을 높이고자 하였다.

인삼 씨의 이화학적 특성을 살펴본 결과, 백립중과 색도는 각 시료마다 유의적인 차이를 보였다. 인삼 씨는 지방이 16%, 단백질이 11%, 회분이 2%, 탄수화물이 51% 정도 차지하고 있으며, 탄수화물 중에서도 섬유소 성분이 70% 정도를 차지하여 섬유소 성분이 풍부한 식품임을 확인할 수 있었다. 또한 무기질 성분 중에서도 K, P, Ca이 풍부하게 함유되어 있었다.

인삼 씨의 생리활성 성분으로 총 폴리페놀과 플라보노이드를 측정된 결과 둘 다 KGS4가 가장 높은 함량을 보였고, AGS, KGS3, CGS의 순으로 나타났다. 이러한 경향은 DPPH, ABTS 라디칼 소거능과 환원력 측정 결과에서도 유사한 순서로 나타났다.

또한 인삼 씨에 주로 함유된 당은 sucrose로 총 수용성 당 함량은 AGS가 26.17 mg glucose/g, dry basis로 가장 높았고, KGS4, CGS, KGS3 순으로 나타났다. 인삼에 함유된 성분 중 최근 항암 활성을 가진 것으로 밝혀져 주목 받고 있는 수용성 다당체 성분의 경우 KGS3에서 가장 높은 함량을 보였고, CGS, KGS4, AGS의 순으로 나타났다.

인삼 씨의 에탄올 추출물이 세포 성장에 미치는 영향을 알아본 결과, Chinese hamster lung fibroblasts인 V79-4세포에 세포독성을 보이지 않는 범위에서 H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 보였다. 항산화력이 가장 높았던 KGS4를 이용해 superoxide dismutase 활성을 살펴본 결과, 추출물을 처리하지 않은 대조군에 비해서 대부분 높은 활성을 보였으며, 100 $\mu g/mL$ 의 추출물을 처리한 효소액의 활성이 유의적으로 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 이 후의 농도에서는 점진적으로 활성이 줄어드는 것으로 보아 100 $\mu g/mL$ 이 가장 효소활성을 높이는 농도임을 확인할 수 있었으며, 이는 ascorbic acid를 10 $\mu g/mL$ 처리한 군에 비해서도 높았다. Catalase 활성도 유사한 결과를 보였다.

지금까지의 결과들을 종합하여 볼 때 인삼 씨에는 다양한 페놀화합물과 섬유소 성분이 많이 함유되어 있으며, 항산화 효과가 있음을 확인하였다. 이러한 연구결과는 인삼 씨의 식품학적 가치를 향상시키고, 기능성 소재로서의 이용 가능성을 증진시킬 수 있는 기초자료가 될 것으로 기대되며, 나아가 기능성 식품 개발에 기여할 것으로 사료된다.

주요어 : 인삼 씨, 이화학적 특성, 생리활성, 항산화 효과

학 번 : 2011-21638

목 차

국문초록	i
목차	iii
표목차	vi
그림목차	vii

I. 서론	1
-------------	---

II. 실험재료 및 방법	4
---------------------	---

1. 실험 재료	4
2. 실험방법	4
2.1. 인삼 씨의 특성 분석	4
2.1.1. 백립중	4
2.1.2. 색도 측정	5
2.1.3. 일반성분 분석	5
2.1.3.1. 수분 정량	5
2.1.3.2. 조단백 정량	6
2.1.3.3. 조지방 정량	7
2.1.3.4. 조회분 정량	7
2.1.3.5. 조탄수화물 함량	8
2.1.3.6. 조섬유 정량	8
2.1.3.7. 무기질 성분 분석	9
2.1.4. 지방산 분석	11
2.1.4.1. 지방 추출	11
2.1.4.2. 지방의 methylation 및 지방산 측정	11
2.1.5. 총 수용성 당 함량	13

2.1.6. 수용성 다당체 함량	13
2.2. 인삼 씨 에탄올 추출물의 생리활성성분 분석	14
2.2.1. 인삼 씨의 에탄올 추출 및 수율	14
2.2.2. 총 폴리페놀 함량.....	14
2.2.3. 총 플라보노이드 함량	15
2.3. 항산화 활성 측정	16
2.3.1. DPPH 자유기 소거 활성능	16
2.3.2. ABTS 자유기 소거 활성능	16
2.3.3. 환원력	17
2.4. 산화적 스트레스 보호효과	18
2.4.1. 세포 생존율 측정	18
2.4.2. 산화적 스트레스에 대한 보호효과 측정	19
2.5. 항산화계 효소 활성 탐색	19
2.5.1. 항산화 효소액 조제	19
2.5.2. Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정	20
2.5.3. Catalase(CAT) 활성 측정	21
2.6. 통계처리	21

Ⅲ. 실험결과 및 고찰 23

1. 인삼 씨의 특성 분석	23
1.1. 백립중	23
1.2. 색도	25
1.3. 일반성분	27
1.4. 무기질	29
1.5. 지방산 조성	31
1.6. 총 수용성 당 함량	33
1.7. 수용성 다당체 함량	34
2. 생리활성성분	36
2.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량	36

3. 항산화 활성	39
3.1. DPPH, ABTS 자유기 소거 활성능과 환원력	39
4. 산화적 스트레스 보호효과	45
4.1. 세포 생존율	45
4.2. 산화적 스트레스에 대한 보호효과	47
5. 항산화계 효소 활성	49
5.1. Superoxide dismutase(SOD) 활성	49
5.2. Catalase(CAT) 활성	51
 IV. 요약 및 결론	 54
 참고문헌	 57
 Abstract	 64

표 목차

Table 1. Operating condition of ICP–AES for mineral analysis for various ginseng seeds	10
Table 2. Operating condition of fatty acid analysis for various ginseng seeds	12
Table 3. Hunter color values of various ginseng seeds	26
Table 4. Proximate composition in various ginseng seeds	28
Table 5. Mineral composition of various ginseng seeds	30
Table 6. Fatty acid composition of various ginseng seeds	32
Table 7. Content of total soluble sugar and soluble polysaccharide of various ginseng seeds.	35
Table 8. Content of total polyphenol and total flavonoid in various ginseng seeds.	38
Table 9. IC ₅₀ value and vitamin C equivalent antioxidant capacity of various ginseng seed ethanol extracts	44

그림 목차

Figure 1. 100-seed weight of various ginseng seeds	24
Figure 2. DPPH radical scavenging activities of various ginseng seed ethanol extracts	41
Figure 3. ABTS radical scavenging activities of various ginseng seed ethanol extracts	42
Figure 4. Reducing power of various ginseng seed ethanol extracts	43
Figure 5. Effect of various ginseng seed ethanol extracts on cell viability in V79-4 cells	46
Figure 6. Protective effect of various ginseng seed ethanol extracts against H ₂ O ₂ induced cell death	48
Figure 7. Effect of Korean 4-year-old ginseng seed ethanol extract on superoxide dismutase(SOD) activities in V79-4 cells	50
Figure 8. Effect of Korean 4-year-old ginseng seed ethanol extract on catalase(CAT) activities in V79-4 cells	53

I. 서론

인삼은 두릅나무과에 속하는 다년생 초본 식물로 한방에서는 신비의 불로장생 약으로 여겨져 왔다. 인삼이 언제부터 약용으로 사용되었는지 정확히 알 수는 없으나, 2천년전 고대 중국의 고서에 문자와 효능이 기술된 것으로 미루어보아 오랜 약용역사를 가졌음을 알 수 있다. 우리나라에서는 삼국시대부터 민간의 경험에 의해 약용으로 이용되어왔다고 알려져 있다(Yun TK 2001). 따라서 인삼에 대한 연구도 많이 이루어져왔다. 주요 기능성 성분인 ginsenosides를 비롯하여 페놀화합물, 폴리아세틸렌, 알칼로이드, 정유성분, 수용성 다당체, 단백질과 펩타이드, 유리당, 지방산 등의 성분분석이 이루어져 왔다(Park CK 등 2003). 이와 함께 이들의 면역활성, 혈당강하활성, 항암활성 등이 알려져 있다(Jung NP 등 1996).

이에 반해 인삼 씨에 대한 연구는 초기 인삼뿌리 연구를 위한 발아율 연구 1건(Huang YG 등 1997)과 인삼에서 주요 효능성분이라고 알려진 ginsenoside에 대한 연구(Ko SK 등 2008, Hu JN 등 2008, Sugimoto S 등 2009), 인삼 씨 오일의 지방산과 phytosterol에 대한 연구만 몇 건(Beveridge THJ 등 2002, Jhu XM 등 2010, Matsumoto T 등 1986) 이루어졌을 뿐 식용을 위한 인삼 씨 자체에 대한 성분을 분석한 사례는 찾을 수 없었다.

선행연구에서 ginsenoside에 대한 연구로 전라북도 김제의 인삼 열매와 충청남도 금산의 인삼 뿌리와 씨, 위스콘신 주에서 얻은 미국 4년산 인삼

씨의 ginsenoside 조성을 비교한 연구 (Ko SK 등 2008)에서 인삼의 뿌리와 인삼 씨의 총 ginsenoside 함량을 비교했을 때, 뿌리 1.87%와 씨 3.30%로 인삼 씨의 ginsenoside 함량이 더 높다고 밝힌 바 있다. 또한 조성 면에서 인삼 뿌리는 다수의 연구에서 밝힌 바와 마찬가지로 protopanaxadiol계가 protopanaxatriol계 보다 많다고 나타났지만, 인삼 씨는 반대로 protopanaxatriol계가 더 많은 것으로 나타나 그 조성 면에서도 차이가 있는 것으로 밝혀졌다. 그 외 인삼 씨의 ginsenoside를 연구한 논문 (Hu JN 등 2008)에서도 유사한 결과가 증명된 바 있다. 따라서 인삼 씨의 식품 소재로서의 가능성은 이미 입증된 바 있으나, 그 외 후속 연구는 부족한 실정임을 확인할 수 있었다.

여러 열매의 씨에 대한 연구가 이루어져 왔는데 그 중에서도 홍화 씨는 골다공증 및 고지혈증 예방에 효과가 있다고 알려져 그 생리활성 뿐 아니라 일반성분 및 기능성 성분에 대한 분석도 많이 이루어져 왔다 (Jhu XM 등 2010). 또한 노화방지, 위장기능 강화효과가 있다고 알려진 대추의 기능성을 살펴본 논문 (Huang YG 등 1997)에서는 상대적으로 과육에 치중된 대추의 활용을 개선하기 위해 대추 씨의 항산화 활성을 살펴보기도 하였다. 그 외에도 포도 씨 (Jayaprakasha G 등 2001, Kallithraka S 등 2007), 아마 씨 (Szydłowska-Czerniak A 등 2010), 해바라기 씨 (Karamać M 등 2012)등에 대한 연구가 이루어져 왔다.

세계적으로 여러 인삼 종이 알려져 있는데, 그 중에서 상품성이 입증되어 유통되고 있는 종에는 크게 3가지 종이 있다. 한국을 비롯한 중국 등 동아시아 지역에 분포하고 재배되고 있는 종(*Panax ginseng* C.A.

Meyer)과 미국과 캐나다에서 재배되고 있는 미국삼(*Panax quinquefolium* L.)이 있으며, 중국 남쪽 지방의 운남성에서 생산되고 있는 전칠삼(*Panax notoginseng* F. H. Chen)이 있다. *Panax ginseng* C.A. Meyer 중에서도 우리나라의 산지특성을 부각시킨 것을 고려인삼(Korean ginseng)이라고 부르고 있는데, 주산지는 한반도이나 중국의 길림성, 흑룡강성 일대와 일본 등지에서 재배, 생산된다고 알려져 있다. 미국삼과 전칠삼은 *Panax*속에 속하나 고려인삼과는 생육환경이나 재배방식이 달라 형태뿐만 아니라 생리활성 능력 또한 다르다고 알려져있고, 이들을 비교한 많이 연구가 수행되어 왔다. (Kim DH 2012, Jhu XM 등 2010, Li TSC 1995, Matsumoto T 등 1986)

본 연구에서는 모양이 서로 유사한 고려인삼과 학명이 같은 중국인삼, 학명이 다르지만 세계적으로 많이 유통되고 있는 미국인삼의 씨를 이용해 이화학적 특성을 비교 분석하고, 항산화 활성을 측정하여 생리활성을 증명함으로써 인삼 씨가 약용이나 건강 기능성 식품으로 응용될 가능성을 탐색하고자 한다.

Ⅱ. 실험재료 및 방법

1. 실험 재료

본 연구에 사용한 4년 근 한국산(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 인삼 씨는 충청남도 금산군에서, 4년 근 미국산(*Panax quinquefolium* L.) 인삼 씨는 미국 위스콘신 주에서, 4년 근 중국산(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 인삼 씨는 중국의 Jilin지역(吉林省)에서 재배된 것이다. 2007년 7월 경 씨를 심어 4년간 인삼을 재배한 후 2011년 10월에 열린 인삼의 열매에서 씨를 채취한 것을 2012년 4월에 구입하여 사용하였다. 3년 근 한국산(*Panax ginseng* C.A. Meyer) 인삼 씨는 같은 지역에서 3년간 재배한 것을 같은 시기에 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 앞서 동결건조 후 믹서로 분쇄하여 분말형태로 -80℃에 보관하면서 사용하였다.

2. 실험 방법

2.1 인삼 씨의 특성 분석

2.1.1. 백립중

인삼 씨 100립의 무게를 4회 반복 측정한 후 평균값으로 나타내었다.

2.1.2. 색도 측정

인삼 씨 종류별 색도를 측정하기 위해 동결건조한 씨 분말을 35mesh 체로 친 후 1 g을 취해 petri dish(Φ 3.5 cm)에 채워 색도 측정용 시료로 사용하였다. 이를 색차계(CM-3500D, Minolta, Japan)를 이용하여 9회 반복 측정하였다. Hunter's color value로 L(lightness), a(redness), b(yellowness)값으로 나타내었고, 이때의 표준 백판은 $L = 95.77$, $a = -0.10$, $b = -0.22$ 이었다.

2.1.3. 일반성분 분석

2.1.3.1. 수분 정량

수분 함량은 105°C 상압가열건조법을(AOAC 1990) 사용하여 측정하였다. 인삼 씨 5 g을 항량된 칭량 접시에 넣은 다음, 105°C dry oven (Dailhan Scientific, Korea)에 넣어 건조시켰다. 이를 일정시간 방냉 후 항량이 될 때까지 무게를 측정하는 과정을 반복하여 항량을 한 후, 아래와 같은 식으로 수분을 정량하였다.

$$\text{수분 (\%)} = (W_1 - W_2) / (W_1 - W_0) \times 100$$

W_0 : 칭량접시의 무게 (g)

W_1 : 시료와 칭량 접시의 무게 (g)

W_2 : 건조 후 시료와 칭량 접시의 무게 (g)

2.1.3.2. 조단백 정량

조단백 정량은 Kjeldahl 질소정량법을 (AOAC 1990) 이용하여 측정하였다. 먼저 분해 과정을 위해 인삼 씨 분말 1 g을 Kjeldahl 플라스크에 넣은 다음, 분해 촉매제 (1000 Kjeltabs Cu, Foss, Sweden) 2개와 진한 황산 12 mL을 더해 잘 혼합하고 420°C로 설정된 분해 장치(Foss, Foss Scino Co Ltd., China)에서 2시간 동안 가열하였다. 분해가 끝나면 30분간 냉각시킨 후 Auto Kjeldahl system (Foss, Foss Scino Co Ltd., China)에서 증류 및 중화한 후 0.1 N HCl 표준용액으로 적정하였다. 같은 방법으로 시료를 제외한 공시험을 병행하였고 아래와 같은 식으로 조단백질 함량을 구하였다.

$$\text{조단백 (\%)} = (B - M) \times 0.0014 \times f \times D \times N / S \times 100$$

B: Blank test의 0.1 N HCl 표준용액의 적정소비량(mL)

M: 시료의 0.1 N HCl 표준용액의 적정소비량(mL)

0.0014: 0.1 N HCl 표준용액의 1 mL에 해당하는 질소량(g)

f: 0.1 N HCl 표준용액의 factor (1.000)

D: 희석배수

N: 질소계수 (6.25)

S: 시료의 채취량 (g)

2.1.3.3. 조지방 정량

조지방 정량은 Soxhlet's 추출법을 (AOAC 1990) 사용하여 측정하였다. 인삼 씨 분말 1 g을 원통여지에 넣은 다음, 항량 된 수기에 ether를 140 mL 넣은 후 냉각관, 추출관, 수기를 연결하여 heating block(Wisd heating mantle, Daihan agent, Korea)에서 60~70℃ 정도로 12시간 가온하였다. 추출이 끝나면 수기만 분리하여 105℃에서 1시간 건조한 후, 방냉, 칭량하였다. 이 과정을 반복하여 항량을 한 후, 아래와 같은 식으로 조지방을 정량하였다.

$$\text{조지방 (\%)} = (W_1 - W_0) / S \times 100$$

W_1 : 지방 추출 후 건조한 수기의 중량 (g)

W_0 : 수기의 중량 (g)

S: 시료 채취량 (g)

2.1.3.4. 조회분 정량

조회분 함량은 550℃ 직접회화법을 (AOAC 1990) 이용하였다. 항량 된

도가니에 인삼 씨 분말 1 g을 넣고 550℃ 회화로에서 24시간 동안 회화하였다. 회화 후 방냉, 칭량하여 항량이 될 때까지 이 과정을 반복하였고, 아래와 같은 식으로 조회분 함량을 계산하였다.

$$\text{조회분 (\%)} = (W_2 - W_0) / (W_1 - W_0) \times 100$$

W_0 : 항량된 도가니의 중량 (g)

W_1 : 회화 전의 도가니와 시료의 중량 (g)

W_2 : 회화 후의 도가니와 재의 중량 (g)

2.1.3.5. 조탄수화물 함량

아래 식과 같이 시료의 무게가 100%일 때 수분, 조지방, 조단백, 조회분의 함량(%)을 빼서 탄수화물의 함량(%)을 구하였다.

탄수화물 (%)

$$= 100\% - (\text{수분} + \text{조지방} + \text{조단백} + \text{조회분})\%$$

2.1.3.6. 조섬유 정량

동결건조 한 인삼 씨 분말 5 g을 ethyl ether를 이용해 지방을 추출 후 제거한 다음 조섬유 추출기(Ankom²⁰⁰⁰, USA)에 장치하여 조섬유를 추출하였다. 0.255 N H_2SO_4 용액으로 40분간 산분해 한 후, 시약 배출 후

뜨거운 증류수로 세척하였다. 0.13 N NaOH 용액으로 위의 과정을 반복한 뒤 꺼내어 acetone으로 세척한 다음 공기 건조시킨 후에 $102 \pm 2^\circ\text{C}$ 의 dry oven에서 24시간 건조하였다. 항량된 도가니에 시료를 넣어 회화시킨 후 무게를 재어 아래와 같은 식으로 조섬유 함량을 계산하였다.

$$\text{조섬유}(\%) = \{W_3 - (W_1 \times C_1)\} / W_2 \times 100$$

W_1 = filter bag 중량(g)

W_2 = 시료 중량(g)

W_3 = 유기 물질 중량(백과 섬유 연소 시 무게 손실)

C_1 = 빈 백/오리지널 빈 Bag 연소 시 가동 평균 중량

2.1.3.7. 무기질 성분 분석

인삼 씨의 무기질 성분 분석은 AOAC법을 (AOAC 1990) 참고로 하였다. 분석방법은 동결건조 한 인삼 씨 분말 1 g을 취하여 550°C 회화로에서 2시간 회화시켜 냉각한 후, HNO_3 용액 3 mL를 가하여 열판에서 과량의 질산을 제거하였다. 이를 다시 550°C 회화로에서 1시간 동안 회화시킨 다음 1 N HCl 용액 10 mL를 가한 후, 여과지(Whatman, No.1)를 이용하여 여과하면서 증류수로 20 mL이 되도록 정용하여 무기질 분석 시료로 사용하였다. 이렇게 여과된 여과액은 ICP-AES(OPTIMA 4300DV, Perkin-Elmer, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석조건은 Table 1 와 같다.

Table 1. Operating condition of ICP–AES for mineral analysis for various ginseng seeds

Instrument parameter	Condition
Model	OPTIMA 4300DV, Perkin–Elmer, USA
Source	Argon plasma(6000K)
Spectral range	167–782nm
Resolution	Better than 0.006nm at 200nm
Detection limit	10 ppb ~ hundreds of ppb

2.1.4. 지방산 분석

2.1.4.1. 지방 추출

지방산 조성 분석을 위한 지방 추출은 동결건조한 인삼 씨 분말 20 g에 헥산 200 mL을 가하여 27°C, 180rpm에서 12시간 동안 흔들여 추출한 후 여과지(Whatman, No.1)로 거른 용액을 회전 진공농축기(Rotavapor, Buchi, Germany)를 이용해 감압·농축 후 질소충진하여 보관하였다가 지방산 추출용 시료로 사용하였다.

2.1.4.2. 지방의 methylation 및 지방산 측정

지방 0.25 g에 0.5 N NaOH 메탄올 용액 6 mL을 가하여 녹이고 80°C에서 10분간 가열 후 14% BF₃ methanol 7 mL(Sigma Chemical Co, USA)를 넣은 후 2분간 끓이고 헥산 5 mL을 가하여 1분간 끓였다. 이후 상온에서 식힌 후 헥산 층을 옮겨 Na₂SO₄ 0.2 g을 넣어 10분간 반응시켜 수분을 제거하였다. 상층액 일부를 취하여 0.2 µm hydrophobic PTFE syringe filter로 여과하여 GC 분석 시료로 이용하였다. 지방산의 분석 조건은 Table 2 와 같다.

Table 2. Operating condition of fatty acid analysis for various ginseng seeds

Instrument parameter	Condition			
Model	Gas Chromatography 6890N (Agilent, USA)			
Column	DB-23 column(capillary, 30.0 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m, J&W scientific, CA, USA)			
Temperature		$^{\circ}$ C/min	Next $^{\circ}$ C	Hold min
	Initial		50	1.00
	Ramp 1	25.00	175	0.00
	Ramp 2	4.00	230	5.00
	Ramp 3	25.00	250	3.00
	Ramp 4	0.00		
Injector	Split mode (split ratio 50:1)			
Detector	260 FID detector, 280 $^{\circ}$ C			
Carrier gas	He 1.3 mL/min			
Injection volume	1.00 μ l			

2.1.5. 총 수용성 당 함량

동결건조 한 인삼 씨 2 g에 증류수 100 mL을 첨가하고 80°C에서 3시간 동안 교반하여 추출한 다음 Whatman, No. 2 여과지로 여과했다. 이렇게 얻은 추출액을 100 mL로 정용한 후 0.45 μ m 막필터로 여과하여 총 당 분석을 위한 시료로 사용하였다. 총 당 함량은 glucose(Sigma Chemical co., USA)를 표준물질로 하여 phenol-sulfuric acid 방법(Dubois M 등 1956)으로 정량하였다.

2.1.6. 수용성 다당체 함량

동결건조 한 인삼 씨 2 g에 증류수 100 mL을 첨가하고 80°C에서 3시간 동안 교반하여 추출한 다음 Whatman, No.2 여과지로 여과했다. 이렇게 얻은 추출액을 100 mL로 정용한 후 20 mL를 취해 냉에탄올 80 mL를 첨가하여 다당체 성분을 침전시킨 후 4°C, 10,000 \times g에서 20분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 이후 침전물을 일정량의 증류수로 현탁시킨 후 산성다당체 분석시료로 사용하였다. 함량은 β -D-galacturonic acid(Sigma Chemical co., USA)를 표준물질로 하여 carbazole-sulfuric acid 방법(Do JH 등 1993)으로 정량하였다.

2.2. 인삼 씨 에탄올 추출물의 생리활성성분 분석

2.2.1. 인삼 씨의 에탄올 추출 및 수율

동결건조한 인삼 씨 분말 10 g에 헥산 100 mL를 넣어 12시간 동안 27°C에서 180rpm으로 교반하여 탈지하였다. 그 후 24시간 동안 헥산을 날려 탈지 시료를 준비하였다. 이 시료에 70% 에탄올을 20배의 부피로 넣어 4시간 동안 27°C에서 180rpm으로 교반하며 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman, No.1)로 거른 후, 남은 잔사를 동일한 방법으로 반복 추출하였다. 이 후 같은 부피의 용매를 잔사에 넣고 27°C에서 1시간동안 Sonication(Bransonic Ultrasonic cleaner, Branson, USA)을 이용하여 추출한 후 여과지(Whatman, No.1)로 걸러 에탄올 추출물을 얻었다. 추출물은 회전 진공농축기(Rotavapor, Buchi, Germany)로 감압·농축하여 동결 건조한 후 무게를 측정하여 수율을 구하였고, 건조한 추출물은 70% 에탄올을 사용하여 100 mg/mL의 농도로 녹여 -20°C에 보관하면서 분석에 사용하였다. 4가지 시료의 70% 에탄올 추출 수율은 KGS3 8.10, KGS4 8.71, AGS 8.75, CGS 7.10 g/100g, dry basis 이었다.

2.2.2. 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량 측정은 Folin-Ciocalteu reagent를 사용한 방법을 (Singleton V 와 Rossi JA 1965) 변형하여 분석하였다. 10 mg/mL로 녹인 각 시료의 추출물 100 μ l를 증류수로 10배 희석한 0.75 mL의 folin-Ciocalteu reagent (Sigma Chemical co., USA) 와 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 이후 0.75 mL의 sodium bicarbonate (60 g/ L) 용액을 첨가하고 잘 섞어주었다. 실온에서 90분간 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ferulic acid (Sigma Chemical Co., USA) 를 250~1000 μ g/mL 농도로 녹여 표준 검량 곡선을 작성하였고, 동결건조 한 시료 100 g 당 mg ferulic acid equivalent(FAE)로 환산하여 표기하였다.

2.2.3. 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 (Zhishen J 등 1999) 의 방법을 참고하여 분석하였다. 10 mg/mL 농도로 녹인 시료 추출물 100 μ l에 3차 증류수 400 μ l를 가한 후 교반하였다. 5% sodium nitrate (NaNO_3) 30 μ l를 넣고 교반한 후 5분 동안 반응을 기다렸다. 이후 10% aluminium chloride (AlCl_3) 30 μ l를 넣고 교반한 후 6분 동안 반응시켰다. 1M의 sodium hydroxide (NaOH)를 200 μ l가하고 바로 3차 증류수 240 μ l를 가하여 희석한 후 교반하였다. 이후 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며 총 플라보노이드 함량은 동결건조 한 시료 100 g 당 mg quercetin equivalent(QE)로 환산하여 표시하였다.

2.3. 항산화 활성 측정

2.3.1. DPPH 자유기 소거 활성능

DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 자유기 소거 활성은 (Brand-Williams W 등 1995)의 방법을 변형하여 측정하였다. 농도별(2, 4, 6, 8, 10, 20 mg/mL)로 희석한 추출물 40 μ L에 0.2 mM DPPH 용액 160 μ L를 가하여 30분간 상온에서 반응시킨 후, 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값을 아래의 식에 대입하여 DPPH 자유기 소거 활성능을 계산하였다. 또한 양성 대조군으로 ascorbic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 사용하여 표준 검량 곡선을 작성한 후 Vitamin C equivalent antioxidant capacity(mg VCEAC/ g)로 환산하여 나타내었다.

DPPH radical scavenging activity (%)

$$= (\text{control absorbance} - \text{sample absorbance}) / (\text{control absorbance} - \text{blank absorbance}) \times 100$$

2.3.2. ABTS 자유기 소거 활성능

ABTS (2,2'-azobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) 자유기 소거 활성은 (Kim DO 등 2002)의 방법을 참고하여 측정하였다. PBS(100

mM potassium phosphate buffer, pH 7.4)에 녹인 1.0 mM의 AAPH (2,2'-azobis (2-methylpropion-amidine)dichloride)와 2.5 mM ABTS를 1:1로 섞어 70 °C 항온수조에서 40분 정도 반응시켰다. 이를 734 nm에서 흡광도를 측정하였을 때 0.650 ± 0.020 이 되도록 희석하거나 더 반응시켜주었다. 농도별(2, 4, 6, 8, 10, 20 mg/mL)로 희석한 추출물 20 μ L에 ABTS 용액 980 μ L을 넣어 37 °C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도 값을 아래의 식에 대입하여 ABTS 자유기 소거 활성능을 계산하였다. 또한 양성 대조군으로 ascorbic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 사용하여 표준 검량 곡선을 작성한 후 Vitamin C equivalent antioxidant capacity(mg VCEAC/ g)로 환산하여 나타내었다.

ABTS radical scavenging activity(%)

= (control absorbance - sample absorbance)/control absorbance \times 100

2.3.3. 환원력

환원력(reducing power)은 (Lin ES 등 2010)의 방법을 참고로 하여 측정하였다. 농도별(0.5, 1, 5, 10 mg/mL)로 희석한 추출물 0.25 mL를 0.25 mL의 sodium phosphate buffer(200 mM, pH 6.6), 0.25 mL의 1% potassium ferric cyanide와 혼합한다. 이후 50°C의 인큐베이터에서 20분 동안 반응시킨다. 0.25 mL의 10% trichloroacetic acid를 첨가하여 반응을

정지시켰다. 혼합물을 3000 rpm에서 10분 간 원심분리를 한 후 상층액 0.5 mL을 취해 0.4 mL의 증류수, 0.1 mL의 0.1% ferric chloride solution과 혼합해 30분 동안 반응시키고, 이것을 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 positive control로 ascorbic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 사용하여 표준 검량 곡선을 작성한 후 Vitamin C equivalent antioxidant capacity(mg VCEAC/ g)로 환산하여 나타내었다.

2.4. 산화적 스트레스 보호효과

2.4.1. 세포 생존율 측정

인삼씨 추출물이 정상세포의 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위하여 (Hansen MB 등 1989)의 연구를 참고하여 MTT(3-(4,5-dimethylthiazolyl)-2,5-diphenyl tetrazolium dromide) 분석을 실시하였다. Chinese hamster lung fibroblasts인 V79-4 세포주를 사용하였으며, 96 well plate에 3×10^4 cell/mL 농도로 분주한 후, 37°C, 5% CO₂의 환경에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 세포의 배지를 제거한 후, 추출물을 농도별로(100, 300, 500, 700, 1000, 1500 µg/mL) 처리하였다. 24시간 동안 배양한 다음 MTT 시약을 10 µl/well로 분주하고 다시 4시간 동안 배양하였다. 이후, 배지를 제거하고 Dimethyl sulfoxide 를 100 µl씩 넣어 formazan이 잘 녹도록 shaking 후에 37°C에서 30분 동안 보관하였다. 이것을 ELISA microplate reader(SpectraMax 190, Molecular Devices, US)를 이용하여 570nm 의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 동일한 양의 추출용매인 70%

에탄올을 넣은 배지로 배양한 것으로 하였으며, 결과는 대조군의 흡광도를 100으로 하여 그에 대한 %로 나타내었다.

2.4.2. 산화적 스트레스에 대한 보호효과 측정

산화적 스트레스를 받은 V79-4 세포에 대한 인삼 씨 추출물의 보호효과는 MTT 분석을 통해 측정하였다. 2.4.1. 과 같은 방법으로 V79-4 세포를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 배지를 제거한 다음 추출물을 1, 10, 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리하였다. 이것을 1시간 동안 배양한 후, 1 mM Hydrogen peroxide(H_2O_2 3%, Sigma chemical Co., USA)를 50 μl 씩 분주하여 세포에 산화적 스트레스를 유발시켰다. 다시 24시간 배양한 후, MTT 분석을 실시하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였으며, Hydrogen peroxide를 처리하지 않은 세포에 대한 생존율 %로 나타내었다.

2.5. 항산화계 효소 활성 탐색

2.5.1. 항산화 효소액 조제

V79-4 세포를 1×10^5 cell/mL 농도로 60mm petri dish에 분주하여 24시간 배양한 다음 한국 4년산 인삼 씨의 에탄올 추출물이 1, 10, 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 각 시료가 녹아있는 배지로 교환하였다. 또한 양성

대조군으로 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 ascorbic acid(Sigma Chemical Co, USA)를 사용하여 인삼 씨 추출물과 항산화제 효소 활성능력을 비교하였다. 이후 다시 24시간 배양하여 얻은 세포에 lysis buffer(Cell lysis buffer 10X, Cell signaling technology, USA)를 200 μl 를 가하고 4°C, 21206 $\times g$ 로 10분 동안 원심분리 후 상층액만 모아 효소액으로 사용하였으며 -20°C에서 보관하였다.

효소 활성을 측정하기 이전에 각 시료의 단백질 농도를 Bradford법 (Bradford MM 1976) 을 이용하여 측정하고 항산화제 효소의 활성은 단백질 농도로 나누어 mg 단백질 양에 대한 활성으로 나타내었다.

2.5.2. Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정

SOD 활성은 SOD assay kit(Cayman Chemical Co., USA)를 이용해 측정하였다. Tetrazolium salt 가 함유된 용액 200 μl 에 효소액을 농도별로 10 μl 넣고 xanthine oxidase를 20 μl 넣어 반응을 개시하였다. 실온에서 20분 동안 진탕기(Digital orbital shaker SHO-1D, Daihan Scientific, Korea)에서 반응을 시킨 뒤 ELISA microplate reader(SpectraMax 190, Molecular Devices, US)를 이용하여 450 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선을 그리기 위해 Bovine erythrocyte SOD (Cu/Zn) 용액을 0~0.25 U/mL 농도로 희석하여 농도별로 활성을 측정한 후 표준 검량곡선을 그렸다. 결과는 SOD unit/ mg protein으로 나타내었으며, 1 unit의 SOD는 superoxide radical의 50%가 dismutase 활성을 보이는

효소의 양을 나타낸다.

2.5.3. Catalase(CAT) 활성 측정

Catalase 활성은 catalase assay kit(Cayman Chemical Co., USA)를 이용해 측정하였다. 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.0) 100 μ l에 메탄올 30 μ l을 넣고 효소액을 농도별로 20 μ l을 넣어주었다. 이후 hydrogen peroxide를 20 μ l 넣어 반응을 개시했다. 이것을 실온에서 20분 동안 진탕기(Digital orbital shaker SHO-1D, Daihan Scientific, Korea)에서 반응을 시킨 뒤 potassium hydroxide 30 μ l를 넣어 반응을 종료시켰다. 발색물질인 purpald를 30 μ l 넣어주고 10분간 실온에 방치하고, potassium periodate 10 μ l를 넣어 5분 간 실온에서 진탕한 후 ELISA microplate reader(SpectraMax 190, Molecular Devices, US)를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이와 같은 방법으로 formaldehyde를 0~75 μ M의 농도로 희석한 후 처리하여 표준 검량곡선을 그렸다. 결과는 CAT unit/ mg protein으로 나타내었으며, 1 unit의 CAT는 25°C에서 1.0 nmol/min/mL의 formaldehyde가 형성되는 것을 의미한다.

2.6. 통계처리

본 실험 결과는 IBM SPSS Statistics 20 통계 프로그램을 이용하여

평균과 표준편차를 나타내었다. 각 실험군 간의 유의성 검증은 일원배치 분산분석(One-way ANOVA)을 실시한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan의 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.

Ⅲ. 실험결과 및 고찰

1. 인삼 씨의 특성 분석

1.1. 백립중

인삼 씨의 품종, 재배지역, 재배년수에 따른 무게의 차이를 알아보기 위해 씨 100개 무게의 평균값인 백립중을 측정하였다. 본 연구에서 측정한 인삼 씨의 백립중 결과는 Fig. 1과 같다. AGS가 4.21 ± 0.31 g으로 유의적으로 가장 무거운 것으로 나타났고, KGS3는 3.20 ± 0.17 g로 그 다음으로 무거웠다. CGS와 KGS4는 2.90 ± 0.11 , 2.87 ± 0.05 g으로 가장 가벼운 것으로 나타났다. 품종이 다른 미국산 씨가 유의적으로 무거웠고, 품종이 같은 한국 4년산 씨와 중국산 씨가 비슷한 무게를 나타냈다. 한국 3년산 씨가 이들에 비해 조금 무거운 결과는 조희분의 함량이 다른 씨에 비해 월등히 높았던 일반성분 분석결과의 영향으로 생각되며, 그 외에 유통, 저장 과정에서 수분함량의 차이도 영향을 미쳤으리라 사료된다.

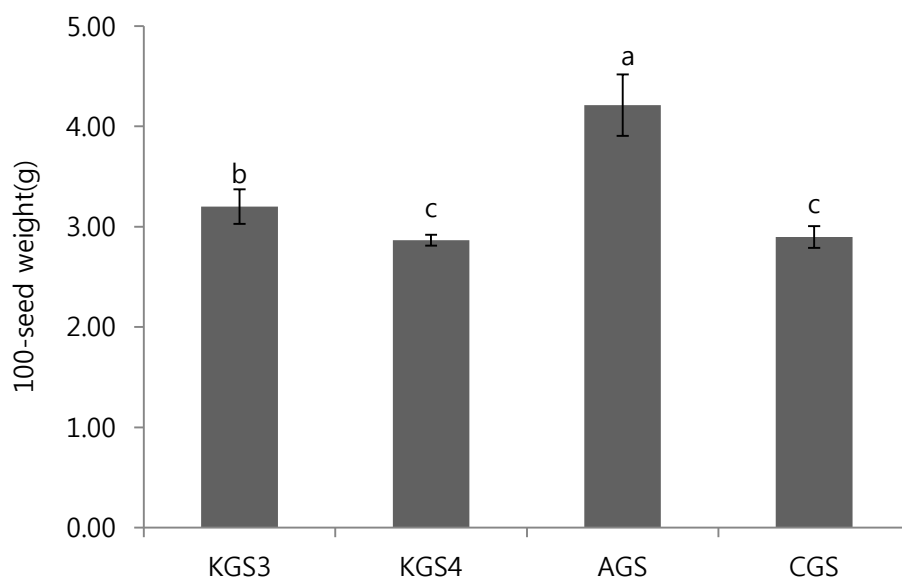


Fig. 1. 100-seed weight of various ginseng seeds.; Unit: g, seeds; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.; Different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

1.2. 색도

본 연구에서는 동결건조 한 인삼 씨를 믹서로 분쇄하여 35 mesh 체를 통과시켜 색도를 측정하였으며, 그 결과는 Table 3와 같다. 품종 간에 유의적인 차이를 보였는데, KGS3는 가장 높은 L 값을 가지고 있었고, KGS4는 가장 낮은 L 값을 가지고 있었다. 적색도를 나타내는 a 값(redness)은 그 값이 커질수록 붉은색을, 작아질수록 푸른색을 나타내는데, CGS의 a 값이 가장 높아 붉은 빛을 띤다는 것을 확인할 수 있었다. 황색도를 나타내는 b 값(yellowness)은 KGS3, CGS에서 가장 높게 나타나 노란 빛이 가장 강하다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 3. Hunter color values of various ginseng seeds

Variety	L* ²⁾	a*	b*
KGS3 ³⁾	47.61±0.45 ^{a1)4)}	4.60±0.20 ^b	14.80±0.23 ^a
KGS4	41.19±0.46 ^d	3.48±0.15 ^d	12.12±0.26 ^c
AGS	46.51±0.74 ^b	4.18±0.19 ^c	12.57±0.17 ^b
CGS	42.93±0.86 ^c	4.93±0.15 ^a	14.72±0.23 ^a

- 1) All results are expressed as mean ± SD for three replicates.
- 2) * The color represented for L(lightness degree), a(redness degree), and b(yellowness degree).
- 3) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.
- 4) Different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

1.3. 일반성분

인삼 씨의 일반성분 함량을 측정하고 비교한 결과는 Table 4와 같다. 조단백질 함량은 AGS가 $15.61 \pm 1.00\%$ 로 가장 높았고, 다른 시료들 사이에는 유의적인 차이가 없었다. 조회분 함량은 KGS3를 제외한 시료는 $1.84 \sim 2.76\%$ 수준으로 포도 씨 $1.7 \sim 3.2\%$ (Hwang JH 등 1999)나 홍화 씨 2.3% (Kim EO 등 2008)와 비슷한 수준으로 나타났으나, KGS3는 $7.73 \pm 0.29\%$ 로 매우 높은 값을 나타내 무기질이 풍부한 것을 확인할 수 있었다. 이는 연근별 인삼의 무기성분을 비교한 논문 (Lee CH 등 1978)에서 저연근의 인삼일수록 조회분 함량이 높았던 것과 유사한 경향을 보인 것으로 사료된다. 조지방 함량은 AGS가 $22.08 \pm 0.56\%$ 로 가장 높은 값을 나타냈고 다른 시료도 $16.07 \sim 18.95\%$ 로 유사한 수준의 지방함량을 가지고 있었다. 조섬유소 함량은 CGS4가 $40.21 \pm 0.26\%$ 로 가장 높은 함량을 보였고, 다른 시료도 $38.59 \sim 39.93\%$ 로 탄수화물의 70% 이상이 섬유소로 이루어져 섬유질이 매우 풍부한 식품 자원임을 확인할 수 있었다.

Table 4. Proximate composition in various ginseng seeds.

(Unit: %, wet basis)

Variety	Moisture	Crude protein	Ash	Crude lipid	Carbohydrate (Crude fiber)
KGS3 ²⁾	10.68±0.24 ^{b1)3)}	12.20±0.45 ^b	7.73±0.29 ^a	17.03±0.43 ^c	52.36±0.76 ^{bc} (38.59±0.13 ^c)
KGS4	16.63±0.49 ^a	11.92±0.35 ^b	1.84±0.03 ^c	16.07±0.90 ^c	53.53±0.69 ^b (39.59±0.14 ^b)
AGS	8.21±0.31 ^d	15.61±1.00 ^a	2.76±0.05 ^b	22.08±0.56 ^a	51.34±1.01 ^c (39.93±0.13 ^a)
CGS	9.76±0.43 ^c	12.40±0.51 ^b	2.65±0.06 ^b	18.95±0.46 ^b	56.24±1.11 ^a (40.21±0.26 ^a)

- 1) All results are expressed as mean ± SD for three replicates.
- 2) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.
- 3) Different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

1.4. 무기질

동결건조 한 인삼 씨를 ICP-AES를 이용하여 무기질 8종의 함량을 분석한 값은 Table 5에 나타내었다. 다량 무기질은 칼륨이 195.60~424.38 mg/100g, 인 146.39~291.13 mg/100g, 칼슘 86.38~139.39 mg/100g, 마그네슘 91.94~129.77 mg/100g, 나트륨 12.46~36.26 mg/100g으로 측정되었고, 미량무기질은 철 8.74~77.38 mg/100g, 아연 1.32~3.22 mg/100g, 구리 0.52~1.27 mg/100g으로 측정되었다. 칼슘과 인의 비율(Ca/P)는 KGS3가 0.65로 가장 높았고, AGS가 0.31로 가장 낮았다.

Table 5. Mineral composition of the various ginseng seeds.

(Unit: mg/100g, dry basis)

Variety	KGS3 ¹⁾	KGS4	AGS	CGS
K	232.21	195.60	424.38	237.77
P	215.85	185.60	291.13	146.39
Ca	139.39	96.06	89.44	86.38
Mg	129.77	91.94	118.05	93.00
Na	31.63	36.26	22.64	12.46
Fe	77.39	8.74	13.77	27.55
Zn	2.30	1.49	3.22	1.32
Cu	1.27	0.52	1.03	0.61

1) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.

1.5. 지방산 조성

인삼 씨의 지방산 조성은 Table 6과 같다. 지방산 조성은 96% 이상이 불포화 지방산으로 한국, 중국, 미국의 인삼 씨에서 추출한 오일의 97%가 불포화 지방산으로 검출되었던 결과(Jhu XM 등 2010)와 유사한 값을 나타냈다. 모든 시료에서 올레산(C 18:1, n9c)가 79.93%~87.09%로 가장 높게 나타났고, 리놀레산(C 18:2, n6c)가 8.94%~15.82%로 다음으로 많은 함량을 보였다. 이 외의 지방산 함량은 공통적으로 미미한 수준으로 나타났다. 시료간 차이를 살펴보았을 때, 품종이 다른 AGS는 유의적으로 올레산(C 18:1, n9c)가 가장 높은 값을, 리놀레산(C 18:2, n6c)이 가장 낮은 값을 나타내, 비율에 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다. 또한 다른 시료에서 리놀렌산(C 18:3)가 미량이지만 검출되었던 것에 비해 AGS에서는 검출되지 않아 품종에 따른 지방산 조성의 차이를 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 미국 5년산 인삼 씨에서도 마찬가지로 리놀렌산(C 18:3)는 검출되지 않았으며, 올레산과 리놀레산 함량의 비율이 다른 품종에 비해 차이가 나는 것과 유사한 경향임을 확인할 수 있었다(Jhu XM 등 2010).

Table 6. Fatty acid composition of the various ginseng seeds.

(Unit: %)

	KGS3 ²⁾	KGS4	AGS	CGS
C 16:0	2.60±0.04 ^{a1)3)}	2.47±0.03 ^b	2.67±0.10 ^a	2.58±0.04 ^a
C 18:1 n9c	79.93±0.24 ^b	80.29±0.23 ^b	87.09±0.81 ^a	80.35±0.20 ^b
C 18:2 n6t	0.79±0.06 ^{ab}	0.83±0.01 ^a	0.39±0.02 ^c	0.74±0.03 ^b
C 18:2 n6c	15.82±0.25 ^a	15.56±0.17 ^a	8.94±0.08 ^b	15.51±0.16 ^a
C 18:3	0.21±0.01 ^b	0.22±0.01 ^a	ND ⁵⁾	0.09±0.00 ^c
C 20:0	0.68±0.01 ^a	0.68±0.01 ^a	0.32±0.02 ^b	0.69±0.02 ^a
SFA ⁴⁾	3.28±0.04 ^a	3.16±0.04 ^b	3.00±0.10 ^c	3.27±0.03 ^a
MUFA	79.93±0.24 ^b	80.29±0.23 ^b	87.09±0.81 ^a	80.35±0.20 ^b
PUFA	16.85±0.31 ^a	16.56±0.22 ^a	9.85±0.60 ^b	16.36±0.16 ^a

1) All results are expressed as mean ± SD for three replicates.

2) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.

3) Different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

4) SFA – saturated fatty acids; MUFA – monounsaturated fatty acids; PUFA – polyunsaturated fatty acids.

5) ND: Not detected.

1.6. 총 수용성 당 함량

인삼의 구성성분 중에서도 당류는 가장 많은 비율을 차지하고 있다. 본 연구에서 품종별로 유리당을 포함한 전체 수용성 당류의 함량을 살펴보았다. Table 7에 나타난 결과와 같이 미국 인삼 씨가 26.17 ± 0.74 mg glucose/g로 가장 많은 수용성 당을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이 수치는 국내산 인삼이 59.5%, 미국산 인삼이 57.9%의 수치를 가진 것(Choung Y 등 1995)에 비해서는 매우 낮은 수치였다. 그러나 국내산 비파 씨에 약 14.34 mg glucose/g이 들어있는 수치(Shim KH 1998) 보다 높았고, 품종별 포도 씨에서 2.35~5.63 mg glucose/g의 총 수용성 당 함량을 보였던 것(Hwang JH 등 1999)에 비해 매우 높은 수치로 비교적 당을 많이 함유하고 있는 씨라는 것을 확인할 수 있었다.

1.7. 수용성 다당체 함량

수용성 다당체는 다수의 단당류가 글리코시드 결합에 의해 묶인 고분자 화합물이다. 대표적인 수용성 다당체로는 펙틴, 알긴, 카라기난 등이 있다. 육상 고등동물, 해조류에도 다량 함유되어 있는데, 게 껍질의 키틴, 버섯의 베타글루칸, 레티난, 운지버섯의 크레스틴 등이 있다. 특히 베타 글루칸은 항암 효과가 뛰어나 항암 치료제로 개발되고 있다(Vetvicka V 2011). 인삼의 수용성 다당체 성분 또한 인삼의 중요 당 성분 중 하나로 혈당강하 효능과 항암활성을 가졌다고 밝혀져(Cheng H 등 2011) 인삼의 사포닌 성분을 잇는 중요한 생리활성 성분으로 꼽히고 있다. 인삼 씨에 함유된 수용성 다당체 함량을 측정한 결과는 Table 7과 같다. 국내 3년근 인삼 씨가 0.80 ± 0.09 mg β -D-galacturonic acid/g로 가장 높은 함량을 보였으며, KGS4, AGS, CGS가 각각 0.57, 0.56, 0.62 mg β -D-galacturonic acid/g로 유사한 값을 보였음을 확인할 수 있었다. 이 수치는 0.08% 수준으로 인삼의 4.41%(Hong HD 등 2007), 인삼 박에서 0.25%, 홍삼 박에서 1.97%(Hwang KH 2011) 측정되었던 수치와 비교해 볼 때, 매우 적은 양이다. 하지만 그 동안 사용하지 않았던 인삼 씨를 이용해 수용성 다당체 성분의 추출이 가능한 것으로 밝혀졌으며, 이것을 인삼의 고농축 수용성 다당체 성분을 얻기 위한 비용과 비교했을 때 그 경제성에 대한 후속 연구가 필요할 것으로 사료된다.

Table 7. Content of total soluble sugar and soluble polysaccharide of various ginseng seeds.

Variety	Total soluble sugar ¹⁾	Soluble polysaccharide ²⁾
KGS3 ⁴⁾	15.00 ± 0.78 ^{c3)5)}	0.80 ± 0.09 ^a
KGS4	16.69 ± 2.07 ^b	0.57 ± 0.05 ^b
AGS	26.17 ± 0.74 ^a	0.56 ± 0.03 ^b
CGS	16.40 ± 1.31 ^{bc}	0.62 ± 0.01 ^b

1) Unit: mg glucose/g, dry basis

2) Unit: mg β -D-galacturonic acid/g, dry basis

3) All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.

4) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.

5) Different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

2. 생리활성성분

2.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

폴리페놀은 식물에 널리 분포해 있는 2차 대사산물 중 하나로써 분자내의 hydroxyl 기가 효소와 같은 거대 분자들과 결합하는 성질로 인해 콜레스테롤 저하작용, 항암효과, 항산화 효과 등의 다양한 생리활성능력을 가지는 것으로 보고되어 있다 (Kim YJ 와 Son DY 2011). 인삼 씨의 폴리페놀의 양을 인삼에 많이 함유되어 있는 ferulic acid의 양으로 환산하여 표시한 결과를 Table 8에 나타냈다. KGS4에서 155.16 ± 13.13 mg ferulic acid/ 100g(dry basis) 으로 가장 높게 측정되었다. 다음으로 AGS(141.09 ± 2.22), KGS3(92.78 ± 9.68), CGS(80.78 ± 4.97) 순으로 함유하고 있었다. 이는 여러 곡물의 총 폴리페놀 함량을 알아본 논문 (Grausgruber H 등 2004) 에서 밀의 경우 품종 별로 95.49~143.96 mg ferulic acid/ 100g, 보리가 114.50~197.15 mg ferulic acid/ 100g, 귀리가 101.51, 128.41 mg ferulic acid/ 100g, 호밀이 118.51, 132.41 mg ferulic acid/ 100g의 함량을 보였던 것과 비교했을 때 유사한 양이었다.

플라보노이드는 3개의 링이 결합된 구조로 각 링 내부의 작용기에 의해 항산화 활성을 가진다고 알려져 있다(Velioglu Y 등 1998). 인삼 씨의 플라보노이드 함량을 살펴본 결과, KGS4에서 135.89 ± 8.70 mg quercetin/ 100g(dry basis) 으로 가장 높게 측정되었다. 다음으로 AGS(129.94 ± 11.60),

KGS3(88.45 ± 6.50), CGS(64.18 ± 0.28) 순으로 함유하고 있었다. 이는 (Kim YJ 와 Son DY 2011)의 연구에서 대추 씨를 70% 에탄올로 추출한 결과에서 2.01 ± 0.15 mg quercetin/ g의 수치와 비교했을 때 유사한 결과였다.

Table 8. Content of total polyphenol and total flavonoid in various ginseng seeds.

Variety	Total polyphenol ¹⁾	Total flavonoid ²⁾
KGS3 ⁴⁾	92.78 ± 9.68 ^{b3)5)}	88.45 ± 6.50 ^b
KGS4	155.16 ± 13.13 ^a	135.89 ± 8.70 ^a
AGS	141.09 ± 2.22 ^a	129.94 ± 11.60 ^a
CGS	80.78 ± 4.97 ^b	64.18 ± 0.28 ^c

1) Unit: mg ferulic acid/ 100g, dry basis

2) Unit: mg quercetin/ 100g, dry basis

3) All results are expressed as mean ± SD for three replicates.

4) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.

5) Different superscripts in the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3. 항산화 활성

3.1. DPPH, ABTS 자유기 소거 활성능과 환원력

인삼 씨를 70% 에탄올로 추출한 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 DPPH 자유기 소거 활성능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 또한 항산화 활성을 IC_{50} 값과 vitamin C equivalent antioxidant activity(VCEAC)로 계산하여 나타낸 결과는 Table 9와 같다. Fig. 2에서 농도 의존적으로 항산화 활성이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 KGS4가 모든 농도에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, 유의적이지 않지만 약간 낮은 수치에 AGS가, 유의적으로 CGS, KGS3가 다음으로 항산화 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

인삼 씨를 70% 에탄올로 추출한 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 ABTS 자유기 소거 활성능을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 또한 항산화 활성을 IC_{50} 값과 vitamin C equivalent antioxidant activity(VCEAC)로 계산하여 나타낸 결과는 Table 9와 같다. Fig. 3을 살펴보면 DPPH와 마찬가지로 농도 의존적으로 항산화 활성이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 KGS4가 유의적으로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 다음으로 AGS, CGS, KGS3 순서로 항산화 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 특히 VCEAC로 나타냈을 때, ABTS가 다른 항산화 측정법에 비해 가장 높은 항산화 활성을 나타냈다. 그 중 KGS4는

17.75±0.38 mg VCEAC/g으로 가장 높은 항산화력을 가졌는데, 이는 (Yoo KM 2009) 의 연구에서 80% mathanol로 추출한 인삼의 항산화 활성이 285.7±14.0 mg VCEAC/100g 과 비교했을 때 6배 이상 높은 수치였다.

인삼 씨를 70% 에탄올로 추출한 추출물의 항산화 활성을 알아보기 위해 환원력을 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 또한 항산화 활성을 vitamin C equivalent antioxidant activity(VCEAC)로 계산하여 나타낸 결과는 Table 9와 같다. Fig. 4을 살펴보면 DPPH, ABTS와 마찬가지로 농도 의존적으로 항산화 활성이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 KGS4와 AGS가 유의적으로 가장 높은 활성을 나타냈다. 특히 VCEAC로 나타냈을 때 KGS4는 7.64±0.57 mg/g으로 가장 높은 활성을 보였다. 이는 유사한 양의 총 폴리페놀 함량을 가졌던 (Grausgruber H 등 2004)의 연구에서 밀이 11.91~25.16 mg/100g, 보리가 44.00~49.15 mg/100g, 귀리가 17.35, 27.87 mg/100g, 20.63, 24.57 mg/100g의 수치를 보인 것과 비교했을 때 매우 높은 수치임을 확인할 수 있었다.

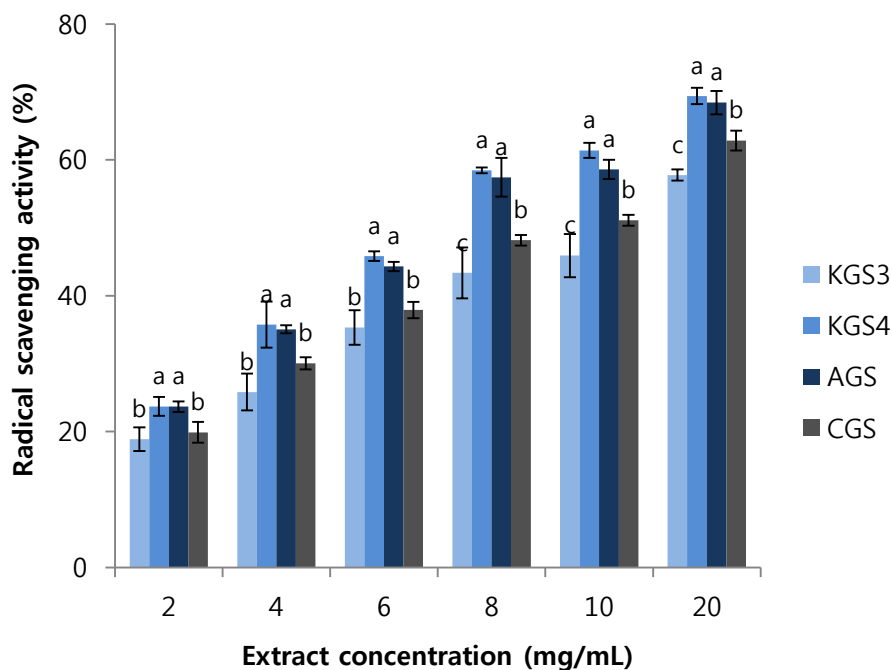


Fig .2. DPPH radical scavenging activities of various ginseng seed ethanol extracts; All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.; Different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

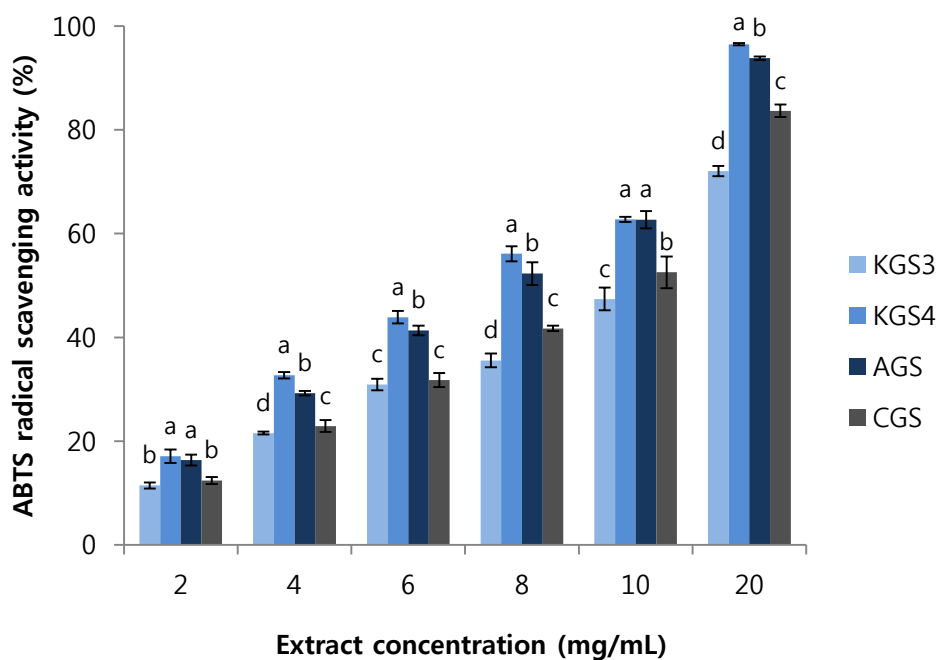


Fig. 3. ABTS radical scavenging activities of various ginseng seed ethanol extracts; All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed. Different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

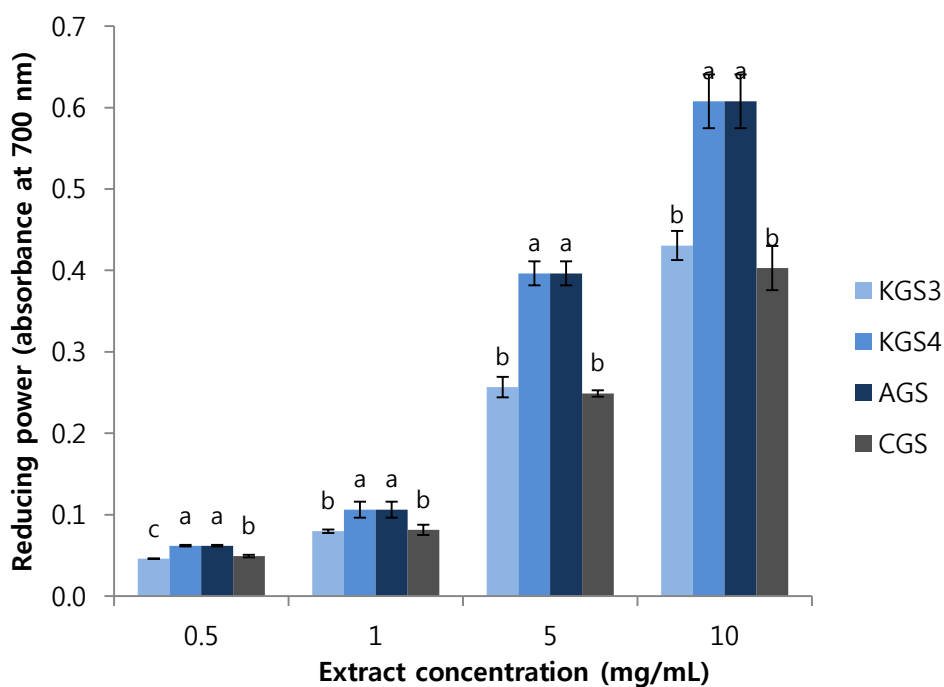


Fig. 4. Reducing power of various ginseng seed ethanol extracts; All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.; Different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 9. IC₅₀ value and vitamin C equivalent antioxidant capacity of various ginseng seed ethanol extracts

Variety ¹⁾	IC ₅₀ (mg/mL)		VCEAC(mg/g)		
	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS	Reducing power
KGS3 ²⁾	16.22±0.17 ^{a3)}	12.85±0.18 ^a	6.28±0.18 ^b	10.89±0.18 ^d	4.82±0.03 ^c
KGS4	7.29±0.28 ^d	8.59±0.06 ^d	8.62±0.56 ^a	17.75±0.38 ^a	7.64±0.57 ^a
AGS	7.73±0.23 ^c	8.97±0.09 ^c	8.61±0.32 ^a	15.61±0.27 ^b	6.30±0.10 ^b
CGS	9.47±0.18 ^b	11.04±0.11 ^b	7.09±0.62 ^b	11.72±0.69 ^c	5.21±0.10 ^c

1) All results are expressed as mean ± SD for three replicates.

2) KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.

3) Different superscripts in the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

4. 산화적 스트레스 보호효과

4.1. 세포 생존율

인삼 씨 추출물의 Chinese hamster lung fibroblast cell line인 V79-4 세포에 대한 생존율을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 100~1500 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 추출물을 처리한 결과, KGS3, KSG4, AGS는 농도 의존적으로 세포 성장을 억제하는 효과를 보였으며, CGS 또한 700 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 농도에서 80% 이상의 생존율을 보였다. 이 결과를 토대로 세포가 최대한 독성의 영향을 받지 않도록 1~300 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 산화적 스트레스 보호효과를 측정하였다.

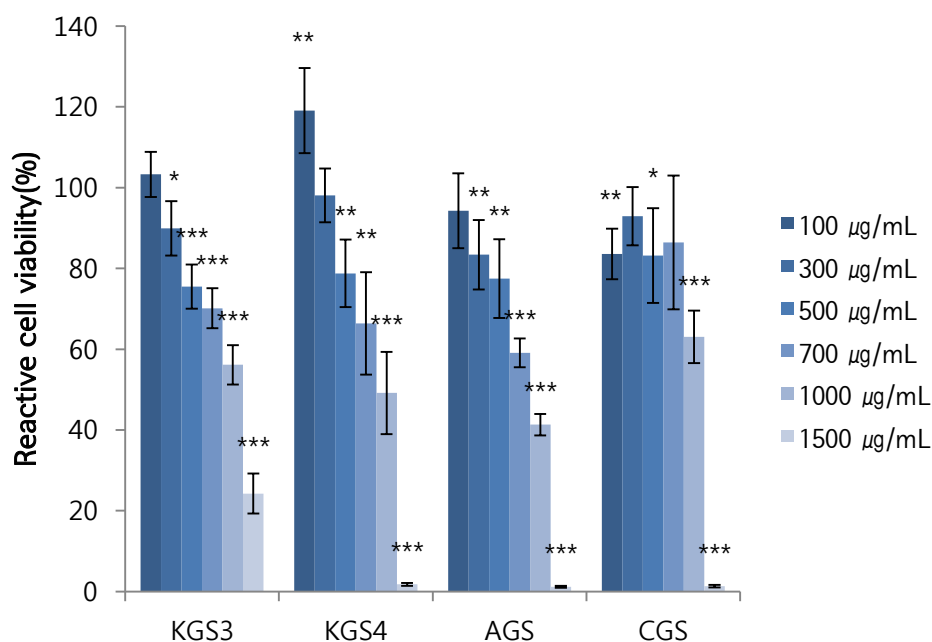


Fig. 5. Effect of various ginseng seed ethanol extracts on cell viability in V79-4 cells; All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.; * significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$, *** significantly different from the values of control at $p < 0.001$

4.2. 산화적 스트레스에 대한 보호효과

H_2O_2 는 superoxide anion, hydroxyl radical, singlet oxygen, hypochlorous acid 등과 함께 reactive oxygen species(ROS)에 속하는 물질로 산화적 스트레스를 유발하며, 이는 산화, 염증, 발암의 요인으로 간주되고 있다. (Polidori MC 등 2001)

본 연구에서는 산화적 스트레스로부터 V79-4 세포에 대한 인삼 씨 추출물의 보호효과를 측정하고자 MTT assay를 통해 정상적으로 세포를 배양한 군에 비해 H_2O_2 를 처리한 군, 그리고 H_2O_2 와 인삼 씨 추출물을 농도별(1, 10, 100, 200, 300 $\mu\text{g/mL}$)로 처리한 실험군의 세포 생존율을 비교하였다.(Fig. 6)

H_2O_2 처리군의 세포 생존율은 정상군에 비해 43.69%로 생존율이 떨어졌으나, 인삼 씨 추출물을 처리했을 때 KGS4, AGS, CGS는 모두 유의적으로 생존율이 회복되는 것을 확인할 수 있다. KGS3의 경우 H_2O_2 처리군에 비해 다소 낮은 값을 보였으나 그 값이 유의적인 수준의 차이가 아니었으므로 KGS3는 세포 보호효과에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

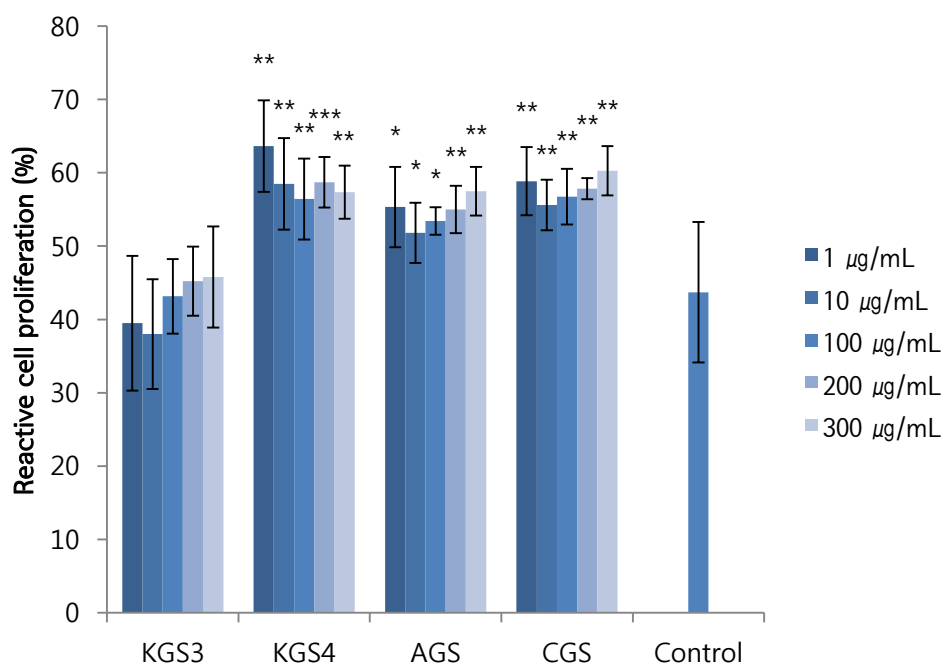


Fig. 6. Protective effect of various ginseng seed ethanol extracts against H_2O_2 induced cell death; All results are expressed as mean \pm SD for three replicates.; KGS3: 3-year-old Korean ginseng seed, KGS4: 4-year-old Korean ginseng seed, AGS: American ginseng seed, CGS: Chinese ginseng seed.; * significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$, *** significantly different from the values of control at $p < 0.001$

5. 항산화계 효소 활성

5.1. Superoxide dismutase(SOD) 활성

ROS의 세포에 대한 공격을 차단하거나 감소시키는 체내 방어기전 물질은 효소계 물질과 비효소계 물질로 나눌 수 있다. 효소계 물질에는 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPx)가 있고, 비효소계 물질로는 vitamin C, vitamin E, glutathione, β -carotene, flavonoid 등이 있다. 그 중 SOD는 McCord와 Fridovich에 의해 처음 보고되어 $2O_2^{\cdot -} + 2H^+ + SOD \rightarrow H_2O_2 + O_2$ 반응을 촉매하는 효소라고 알려져 있다. (Polidori MC 등 2001)

V79-4 세포에서 한국 4년산 인삼 씨 에탄올 추출물의 SOD 효소 활성을 측정한 결과는 Fig. 7과 같다. 추출물을 처리하지 않은 control에 비해서는 10 μ g/mL의 추출물을 처리한 효소액을 제외하고 높은 활성을 보였으며, 100 μ g/mL의 추출물을 처리한 효소액의 활성이 유의적으로 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 이 후의 농도에서는 점진적으로 활성이 줄어드는 것으로 보아 100 μ g/mL 이 가장 효소활성이 높은 적정농도임을 확인할 수 있었으며, 이는 ascorbic acid를 10 μ g/mL 처리한 효소액에 비해서도 높았다.

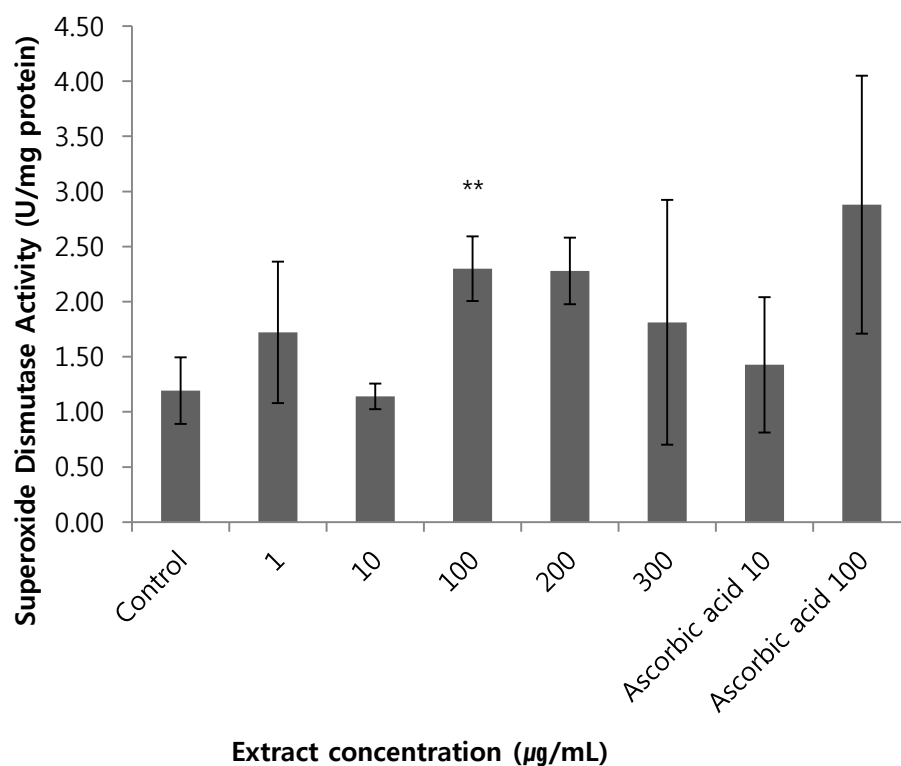


Fig. 7. Effect of Korean 4-year-old ginseng seed ethanol extract on superoxide dismutase(SOD) activities in V79-4 cells; * significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$, *** significantly different from the values of control at $p < 0.001$

5.2. Catalase(CAT) 활성

Catalase는 대부분의 호기성 세포에 존재하는 항산화 효소로, hydrogen peroxide(H_2O_2)와 reactive oxygen species(ROS)와 같은 호기성 대사의 독성물질을 해독하는데 관여하는 효소이다. 이 효소는 2분자의 H_2O_2 를 한 분자의 산소와 두 분자의 물로 변환시키는 작용에 관여한다.

V79-4 세포에서 한국 4년산 인삼 씨 에탄올 추출물의 CAT 효소 활성을 측정한 결과는 Fig. 8과 같다. 추출물을 처리하지 않은 control에 비해서는 1 $\mu g/mL$ 의 추출물을 처리한 효소액을 제외하고 높은 활성을 보였으며, 100 $\mu g/mL$ 의 추출물을 처리한 효소액의 활성이 유의적으로 높은 것을 확인할 수 있었다. 이는 SOD의 결과와 유사한 결과였다. 이 후의 농도에서는 점진적으로 활성이 줄어드는 것으로 보아 100 $\mu g/mL$ 이 가장 효소활성이 높은 적정농도임을 확인할 수 있었으며, 이는 ascorbic acid를 10, 100 $\mu g/mL$ 처리한 효소액에 비해서도 높았다.

이상의 항산화계 효소의 활성을 측정한 결과를 통해 대조군과 비교하여 대부분 SOD와 CAT 활성이 추출물에 의해 향상된 것을 확인할 수 있었다. 이는 인삼 씨 추출물이 SOD 활성을 높여 세포 내 호흡작용의 부산물로 생성되는 superoxide anion을 H_2O_2 로 전환시키며, 생성된 H_2O_2 에 대한 방어기전으로 CAT의 활성을 증가시켜 H_2O 로 효과적으로 전환해 무독화시키는 것으로 추정된다. 이러한 작용을 하는 물질로 폴리페놀이 보고된 바 있어(Yamamoto T 등 2004) 본 연구에서도 폴리페놀이 영향을

미쳤을 것으로 생각된다.

간암 세포주를 대상으로 산화적 스트레스 유발 후 항산화 효과를 측정한 논문에서(Lee SY 등 2011) 본 연구 결과와 마찬가지로 농도 의존적으로 효소활성이 증가하는 결과를 보이지 않았으며, 농도보다 추출물의 처리시간이 더 영향을 미치는 것으로 나타나 처리시간에 따른 차이에 대한 후속 연구가 필요한 것으로 사료된다.

또한 항산화 효소 활성의 기전에 관한 연구는 많이 이루어져 있으나(Lee SY 등 2011; Morimitsu Y 등 2002; Yamamoto T 등 2004), 인삼 씨 추출물이 미치는 영향에 대한 기전은 연구된 바가 없으므로 개별 유전자 발현을 확인하여 기전 규명에 대한 후속 연구가 필요한 것으로 사료된다.

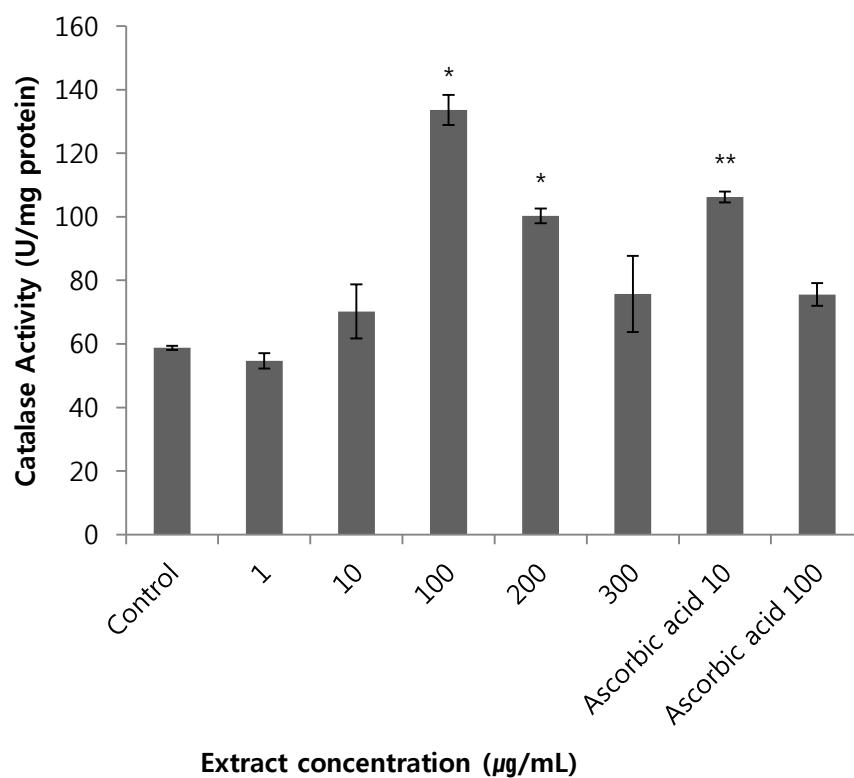


Fig. 8. Effect of Korean 4-year-old ginseng seed ethanol extract on catalase(CAT) activities in V79-4 cells; * significantly different from the values of control at $p < 0.05$, ** significantly different from the values of control at $p < 0.01$

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 모양이 서로 유사한 고려인삼과 학명이 같은 중국인삼, 학명이 다르지만 세계적으로 많이 유통되고 있는 미국삼의 씨를 이용해 이화학적 특성을 비교 분석하고, 항산화 활성을 측정하여 생리활성을 증명함으로써 인삼 씨가 약용이나 식품으로 응용될 가능성을 탐색하고자 하였다.

1. 인삼 씨의 이화학적 특성을 살펴본 결과, 백립중은 품종이 다른 AGS가 유의적으로 무거웠고, 품종이 같은 KGS4와 CGS가 비슷한 무게를 나타냈다. 일반성분은 조단백질 함량은 11.92~15.61%, 조회분 함량은 1.84~7.73%, 조지방 함량은 16.07~22.08%로 나타났다. 조섬유소 함량은 38.59~40.21%로 탄수화물의 70% 이상이 섬유소로 이루어져 섬유질이 매우 풍부한 식품임을 알 수 있었다. 무기질은 칼륨이 195.60~424.38, 인 146.39~291.13, 칼슘 86.38~139.39 mg/100g 순으로 많이 함유되어 있었다. 지방산 조성은 96% 이상이 불포화 지방산으로 모든 시료에서 올레산이 79.93%~87.09%로 가장 높게 나타났고, 리놀레산이 8.94%~15.82%로 다음으로 많은 함량을 보였다. 품종이 다른 AGS는 유의적으로 올레산이 가장 높고, 리놀레산이 가장 낮아 구성에 차이가 나는 것을 확인할 수 있었다.

2. 인삼 씨와 추출물의 생리활성 성분 분석 결과, 70% 에탄올로 추출한

인삼 씨 추출물의 총 폴리페놀 함량은 80.78~155.16 mg ferulic acid/ 100 g로 나타났고, 총 플라보노이드 함량은 64.18~135.89 mg quercetin/ 100 g으로 나타났으며, 함량이 많은 순서는 KGS4>AGS>KGS3>CGS로 동일하게 나타났다. 총 수용성 당은 AGS가 26.17 ± 0.74 mg glucose/g로 가장 많이 함유하고 있는 것으로 나타났다. 수용성 다당체는 KGS3가 0.80 ± 0.09 mg β -D-galacturonic acid/g로 가장 높은 함량을 보였으며, KGS4, AGS, CGS가 각각 0.57, 0.56, 0.62 mg β -D-galacturonic acid/g로 유사한 값을 보인 것을 확인할 수 있었다.

3. 인삼 씨 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과, DPPH, ABTS 라디칼 소거능, 환원력은 모두 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타냈다. 또한 KGS4가 가장 높은 항산화력을 보였으며, 다음으로 AGS가 높았다. CGS와 KGS3는 실험마다 순서의 차이는 있었으나 유사하게 가장 낮은 항산화력을 나타냈다.

4. 인삼 씨 추출물의 V79-4 세포에 대한 활성을 살펴본 결과 CGS를 제외한 시료에서 농도 의존적으로 세포성장 억제효과를 나타냈다. 모든 시료에서 80% 이상의 생존율을 보인 300 μ g/mL 이하의 농도에서 산화적 스트레스에 대한 보호효과를 살펴본 결과, KGS4, AGS, CGS는 모두 대조군과 비교했을 때 유의적으로 보호효과를 보였다. KGS3는 약간 낮은 값을 보였으나 유의적이지 않았다.

5. 항산화력이 가장 높았던 KGS4를 이용해 superoxide dismutase 활성을 살펴본 결과, 추출물을 처리하지 않은 대조군에 비해서는 대부분 높은 활성을 보였으며, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 추출물을 처리한 효소액의 활성이 유의적으로 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 이 후의 농도에서는 점진적으로 활성이 줄어드는 것으로 보아 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 가장 효소활성이 높은 농도임을 확인할 수 있었으며, 이는 ascorbic acid를 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리한 군에 비해서도 높았다. Catalase 활성도 유사한 결과를 보여 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 가장 효소활성이 높은 적정농도임을 확인할 수 있었으며, 이는 ascorbic acid를 10, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리한 군에 비해서도 높았다.

이상의 결과들을 종합해 볼 때 인삼 씨의 성분 분석에서 섬유소와 불포화 지방산이 풍부한 식품 소재임을 확인할 수 있었다. 또한 총 페놀과 플라보노이드 함량이 가장 높았던 한국 4년산 씨가 모든 실험에서 동일하게 항산화 활성이 가장 높게 나타났으며, V79-4 세포에 대한 생존율도 가장 높은 것을 확인할 수 있었다. 이를 이용해 항산화계 효소 활성을 살펴본 결과, 대조군과 ascorbic acid 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리군에 비해 높은 활성을 보였다. 이러한 연구 결과는 인삼 씨의 식품학적 가치를 확인하는 자료가 되었으며, 기능성 소재로서 이용 가능성을 증진시킬 수 있는 기초자료가 될 것으로 기대된다. 이를 통해 향후 인삼 씨를 활용한 건강 기능성 식품 개발 시 본 연구 결과가 의의가 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

- AOAC. 1990. AOAC, Official methods of analysis (15th edn.). Association of official analytical chemists. Washington DC
- Beveridge THJ, Li TSC, Drover JCG. 2002. Phytosterol content in American ginseng seed oil. Journal of agricultural and food chemistry. 50(4):744-750
- Bradford MM. 1976. Foreign patent documents. Biochemistry. 72:248-254
- Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food Science and Technology. 28(1):25-30
- Cheng H, Li S, Fan Y, Gao X, Hao M, Wang J, Zhang X, Tai G, Zhou Y. 2011. Comparative studies of the antiproliferative effects of ginseng polysaccharides on ht-29 human colon cancer cells. Medical oncology. 28(1):175-181
- Choi YJ, Hwang KH. 2011. Analysis of the extraction condition of soluble acidic polysaccharides from ginseng marc. Korean Journal of Phamacognosy. 42(1):82-88
- Choung Y, Chung C, Ko S, Choi K. 1995. Comparison of agronomic characteristics and chemical component of *Panax ginseng* C.A. Meyer and

Panax quinquefolium L. Korean Journal of Ginseng Science. 19(2):160–164

Do JH, Lee HO, Lee SK, Jang JK, Lee SD, Sung HS. 1993. Colorimetric determination of acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, its extraction condition and stability. Korean Journal of Ginseng Science. 17:139–144

Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers P, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28(3):350–356

Grausgruber H, Scheiblauber J, Schö nlechner R, Ruckenbauer P, Berghofer E, Vollmann J. (2004). Variability in chemical composition and biologically active constituents of cereals. In Genetic Variation for Plant Breeding; Proceedings of the 17th EUCARPIA General Congress.:23–26.

Hansen MB, Nielsen SE, Berg K. 1989. Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. Journal of immunological methods. 119(2):203

Hong HD, Kim YC, Rho JH, Kim KT, Lee YC. 2007. Changes on physicochemical properties of *Panax ginseng* C.A. Meyer during repeated steaming process. Journal of Ginseng Research. 31(4):222–229

Huang YG, Li XG, Cui SY, Yu WB, Kuang YL, Yan JK, Yang JX, Liu RS, Kim HS. 1997. Dynamic studies on physiology and biochemistry in American ginseng seed during stratification – part ii. Contents of soluble carbohydrate, crude fat, fatty acid and soluble protein. Korean Journal of Ginseng Science. 21(1):39–42

Hwang JH, Kang HC, Kim TS, Park WJ. 1999. Lipid component and properties of grape seed oils. *Journal of food science and nutrition*. 12:150–155

Jayaprakasha G, Singh R, Sakariah K. 2001. Antioxidant activity of grape seed *vitis vinifera* extracts on peroxidation models in vitro. *Food chemistry*. 73(3):285–290

Jung NP, Jin SH. 1996. Studies on the physiological and biochemical effects of Korean ginseng. *Korean Journal of Ginseng Science*. 20(4):431–471

Kallithraka S, Garcia- Viguera C, Bridle P, Bakker J. 2007. Survey of solvents for the extraction of grape seed phenolics. *Phytochemical Analysis*. 6(5):265–267

Karamać M, Kosińska A, Estrella I, Hernández T, Dueñas M. 2012. Antioxidant activity of phenolic compounds identified in sunflower seeds. *European Food Research and Technology*:1–10

Shim KH. 1998. Studies on the chemical compounds, biological activities and utilization of loquat in Korea. Gyeongsang National University

Kim DH. 2012. Chemical diversity of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, and *Panax notoginseng*. *Journal of Ginseng Research*. 36(1):1–15

Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (vceac) of phenolic phytochemicals. *Journal of*

agricultural and food chemistry. 50(13):3713–3717

Kim EO, Lee KT, Choi SW. 2008. Chemical comparison of germinated–and ungerminated–safflower (*carthamus tinctorius*) seeds. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 37

Kim YJ, Son DY. 2011. Antioxidant effects of solvent extracts from the dried jujube (*zizyphus jujube*) sarcocarp, seed, and leaf via sonication. Food Science and Biotechnology. 20(1):167–173

Ko SK, Bae HM, Cho OS, Im BO, Chung SH, Lee BY. 2008. Analysis of ginsenoside composition of ginseng berry and seed. Food Science and Biotechnology. 17(6):1379–1382

Lee CH, Nam KY, Choi KJ. 1978. Relationship between the age and chemical components of ginseng root's portion (*Panax ginseng* C.A. Meyer). Korean Journal of Food Science and Technology. 10:263–268

Lee SY, Wi HR, Lee MS. 2011. Comparison of the Antioxidant Effects of Diallyl Sulfide, Capsaicin, Gingerol and Sulforaphane in H₂O₂–Stressed HepG2 Cells. The Korean Journal of Nutrition. 44(6):488–497

Hu JN, Lee JH, Shin JA, Choi JE, Lee KT. 2008. Determination of ginsenosides content in Korean ginseng seeds and roots by high performance liquid chromatography. Food Science and Biotechnology. 17(2):430–433

Zhu XM, Hu JN, Shin JA, Lee JH, Hong ST, Lee KT. 2010. Comparison of seed oil characteristics from Korean ginseng, Chinese ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) and American ginseng (*Panax quinquefolium* L.).

Journal of Food Science and Nutrition. 15(4):275–281

Li TSC. 1995. Asian and American ginseng—a review. HortTechnology. 5(1):27–34

Lin ES, Yang CT, Chou HJ, Chang TT. 2010. Screening of antioxidant activities by the edible basidiomycete antrodia cinnamomea strains in submerged culture. Journal of Food Biochemistry. 34(6):1141–1156

Matsumoto T, Akihisa T, Soma S, Takido M, Takahashi S, Yamanouchi S. 1986. Composition of unsaponifiable lipid from seed oils of *Panax ginseng* and *P. quiquefolium*. Journal of the American Oil Chemists' Society. 63(4):544–546

Morimitsu Y, Nakagawa Y, Hayashi K, Fujii H, Kumagai T, Nakamura Y, Osawa T, Horio F, Itoh K, Iida K, Yamamoto M, Uchida K. 2002. A Sulforaphane Analogue That Potently Activates the Nrf2-dependent Detoxification Pathway. The Journal of Biological Chemistry. 277(5):3456–3463

Park CK, Jeon BS, Yang JW. 2003. The chemical components of Korean ginseng. Food Industry and Nutrition. 8(2):10–23

Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. 2001. Profiles of antioxidants in human plasma. Free Radical Biology and Medicine. 30(5):456–462

Singleton V, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. American journal of

Enology and Viticulture. 16(3):144–158

Sugimoto S, Nakamura S, Matsuda H, Kitagawa N, Yoshikawa M. 2009. Chemical constituents from seeds of *Panax ginseng*: Structure of new dammarane-type triterpene ketone, panaxadione, and hplc comparisons of seeds and flesh. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 57(3):283–287

Szydłowska-Czerniak A, Trokowski K, Karlovits G, Szłyk E. 2010. Determination of antioxidant capacity, phenolic acids, and fatty acid composition of rapeseed varieties. Journal of agricultural and food chemistry. 58(13):7502–7509

Velioglu Y, Mazza G, Gao L, Oomah B. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of agricultural and food chemistry. 46(10):4113–4117

Vetvicka V. 2011. Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug. World Journal of Clinical Oncology. 2(2):115

Yamamoto T, Lewis J, Wataha J, Dickinson D, Singh B, Bollag WB, Ueta E, Osaki T, Athar M, Schuster G, Hsu S. 2004. Roles of catalase and hydrogen peroxide in green tea polyphenol-induced chemopreventive effects. The Journal of Pharmacology and Experimental Theapeutics. 308(1):317–323

Yoo KM. 2009. Effect of hot water boiling and autoclaving on physicochemical properties of american ginseng (*Panax quinquefolium* L.). Journal of Ginseng Research. 33(1):40–47

Yun TK. 2001. Brief introduction of *Panax ginseng* C.A. Meyer. Journal of Korean medical science. 16(SUPP):3–5

Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. Food chemistry. 64(4):555–559

Abstract

Antioxidant Activities and Physicochemical Characteristics of Various Ginseng Seeds

Hee-Jung Kim

Department of Food and Nutrition

The Graduate School

Seoul National University

The aim of the present study was to investigate the physicochemical characteristics and antioxidant activities of Asian ginseng seed (*Panax ginseng* C.A. Meyer) and American ginseng seed (*Panax quinquefolium* L.) grown in Korea (3 years, KGS3; 4 years, KGS4), China (4 years, CGS4), and America (4 years, AGS4).

The proximate compositions of the ginseng seeds were 11.92~15.61% crude protein, 1.84~7.73% crude ash, 16.07~22.08% crude lipid, 38.59~40.21% crude fiber. The mineral contents of the ginseng seeds were greater in order of K>P>Ca>Mg>Fe>Na>Zn>Cu. The unsaturated fatty acid content was 96.71~96.94%, and the major fatty acids oleic acid and linoleic acid were detected. AGS had the heaviest 100-seed weight(4.21 ± 0.31 g).

The total polyphenol and flavonoid contents of ethanolic extracts prepared from various ginseng seeds were determined. The total polyphenol content and flavonoid content were varied from 80.78 to 155.16 mg ferulic acid/ 100 g and 64.18 to 135.89 mg quercetin/ 100 g of dried ginseng seed, respectively. The contents of total polyphenol and flavonoid were in the order of KGS4 > AGS > KGS3 > CGS.

The total soluble sugar content was 15.00~26.17 mg glucose/g. The soluble polysaccharides content was 0.56~0.80 mg β -D-galacturonic acid/g.

The antioxidant activity of the extracts was measured by three different ways; 1,1-diphenyl-2-picryldrazyl (DPPH) radical scavenging assay, ABTS radical scavenging assay, and reducing power assay. The ethanolic extracts showed antioxidant activity in a dose dependent manner. KGS4 showed the highest antioxidant activity based on DPPH, ABTS radical scavenging assay, followed by AGS, CGS, and KGS3. KGS4 also had the highest value of antioxidant activity based on reducing power assay followed by AGS, KGS3, and CGS at the concentration of 10 mg/mL

The antioxidant effect was evaluated using Chinese hamster lung fibroblasts V79-4 cell line for antioxidant enzymatic defense activity. Ginseng seed extracts effected the cell protective activities from oxidative stress by hydrogen peroxide and increased the antioxidant enzymatic activities such as superoxide dismutase and catalase at the concentration of

100 $\mu\text{g/mL}$

In conclusion, these results provided knowledge about the difference of physicochemical characteristics and antioxidant activities in ginseng seeds with respect to cultivation location, cultivation year, and species. We identified that ginseng seed had various functional contents, biological activities, and availability as food material.

Keyword : ginseng seed, physicochemical characteristic, biological activity, antioxidant effect

Student number : 2011-21638